

EFEK LIKOPEN TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIK LIMPA TIKUS BETINA SPRAGUE DAWLEY

EFFECT OF LYCOPENE TO MICROSCOPIC APPEARANCE OF SPLEEN ON *Sprague Dawley* FEMALE RAT

Sapto Yuliani

*Fak. Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta
Kampus 3 : Jl. Prof. Soepomo SH Janturan Yogyakarta
Telp: (0274)379418, Email: syuliani@yahoo.com*

Abstrak

Senyawa karotenoid termasuk likopen dan lutein mempunyai kemampuan meningkatkan sistem imun. Salah satu organ yang berperan dalam sistem imun adalah limpa. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek likopen terhadap gambaran makroskopik dan mikroskopik limpa tikus percobaan.. Sejumlah 20 ekor tikus Sprague Dawley, betina, umur 1 bulan, berat kurang lebih 100 g dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok I diberi likopen dosis 3µg/Kg BB, kelompok II diberi likopen dosis 6µg/Kg BB, kelompok III diberi pelarut likopen (corn oil), kelompok IV diberi aquades saja. Pemberian likopen dan aquades setiap hari, per oral, selama 17 hari. Pada hari ke 14 untuk kelompok I, II dan III disuntik aloksan subkutan dosis 120 mg/kg BB. Tiga hari setelah pemberian aloksan hewan uji dikorbankan, diambil organ limpa, kemudian disimpan dalam larutan formalin 10% untuk pembuatan preparat histopatologik. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan bahwa pemberian likopen dosis 6 ug/kg BB pada pulpa putih lebih banyak terbentuk sentrum germinativum dibandingkan pada kelompok yang diberi likopen dosis 3ug/kgBB maupun yang hanya diberi aloksan saja. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian likopen mempengaruhi gambaran mikroskopik limpa yaitu meningkatkan pembentukan sentrum germinativum.

Kunci : *llicopen, gambaran mikroskopik, limpa*

Abstract

Carotenoid compound, include lycopene and lutein, has ability to increase immune system. One of organs included in immune system is spleen. The objective of the study is to observe the effect of lycopene to the histopathologic appearance of rat spleen. Twenty female Sprague Dawley rat, 1 month old, 100 grams of weight divide into 4 groups. The first group got lycopene dosage 3 ug/kg of body weight, the second group got lycopene dosage 6 ug/kg of body weight, the third group got corn oil (vehicle control) and the fourth group got aquadest. The treatment were given during 17 days, orally. At the day 14, the first, second and third groups were injected by aloxan subcutaneuslly. Three days after injection of aloxan, all of rats were sacrificed, spleen were taken in order to histopathological examination. Histopathologic appearances of spleen were analized descriptively. The result showed that lycopene dosage 6 ug/kg of body weigh able to increase centrum germinativum formation of spleen white pulp more than lycopene dosage 3 ug/kg of body weight. Base on the result can be concluded that lycopene administration can increase centrum germinativum formation of spleen white pulp.

Keyword : *lycopene, histopathologic appearance, spleen*

PENDAHULUAN

Senyawa yang mempunyai aktifitas antioksidan terbukti mampu meningkatkan sistem imun salah satu antioksidan yang terdapat di tanaman adalah likopen. Likopen banyak terdapat pada buah yang berwarna merah seperti semangka, papaya dan tomat. Likopen mempunyai aktifitas antioksidan yang paling kuat diantara senyawa karotenoid yang lain (Agarwal dan Rao, 2000). Hasil peneliti- an Matos (2006) serta Chew *and* Park (2004) melaporkan bahwa senyawa karotenoid termasuk likopen dan lutein mempunyai kemampuan meningkatkan sistem imun.

Organ yang berperan dalam sistem imun salah satunya adalah limpa. Limpa merupakan organ yang banyak mengandung jaringan limfoid untuk fungsi

imunologik Peningkatan sistem imun akan memberikan efek protektif tubuh terhadap agen asing (antigen) yang dapat merusak sel. Aloksan dapat menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria ini mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel yang dapat memacu sistem imun (Walde et al, 2002). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah pemberian likopen dapat meningkatkan sistem imun dilihat dari gambaran makroskopis dan mikroskopis limpa tikus yang diinduksi dengan aloksan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian likopen sebagai nutritional antioksidan yang

berperan terhadap pencegahan suatu penyakit.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah likopen (E. Merck), formalin 10%, hematoksilin eosin, xylem, etanol.

Alat

Alat yang digunakan adalah jarum oral, mikrotom, alat bedah, mikroskop, kamera.

JALAN PENELITIAN

Sebanyak 20 ekor tikus Sprague Dawley, betina, umur 1 bulan, berat kurang lebih 100 gr dibagi menjadi 4 kelompok. Setelah diadaptasikan selama 1 minggu tikus dikelompokkan sebagai berikut Kelompok I merupakan kelompok uji yang diberi likopen dosis 3 μ g/Kg BB, kelompok II merupakan kelompok uji yang diberi likopen dosis 6 μ g/Kg BB, kelompok III merupakan kelompok yang hanya diberi pelarut

aquades saja. Perlakuan diberikan secara oral, setiap hari, selama 17 hari.

Pada hari ke 14 untuk kelompok I, II dan III disuntik aloksan secara subkutan dosis 120 mg/kg BB, dan pemberian likopen tetap diberikan sampai hari ke 17. Hari ke 18 hewan uji dikorbankan diambil organ limpanya, ditimbang kemudian disimpan dalam larutan formalin 10% untuk pembuatan preparat histopatologik sesuai metode standar yang dilakukan di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM.

Analisis data

Gambaran makroskopis dan mikroskopis limpa dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan antara kelompok perlakuan dengan kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan makroskopik limpa pada semua tikus yang diambil hari ke-3 setelah mendapat aloksan ditunjukkan pada Tabel I.

Tabel I. Gambaran makroskopik limpa tikus pada semua kelompok perlakuan.

Likopen 3 μ g/BB	Likopen 6 μ g/BB	Corn oil	Aqudest
1. tepi lancip	1. tepi tumpul	1. tepi lancip	1. tepi lancip
2. tepi lancip	2. tepi tumpul	2. tepi lancip	2. tepi lancip
3. tepi tumpul	3. tepi lancip	3. tepi lancip	3. tepi lancip
4. tepi tumpul	4. tepi tumpul	4. tepi lancip	4. tepi lancip
5. tepi tumpul	5. tepi tumpul	5. tepi lancip	5. tepi lancip

likopen (*corn oil*), kelompok IV merupakan kelompok yang hanya mendapat

Berdasarkan pengamatan makroskopik menunjukkan bahwa tidak semua limpa tikus tepi organnya berbentuk

lancip. Menurut Brake *et al* (1997) paparan limpa oleh imunogen akan membangkitkan aktivitas imun limpa. Pada aktivitas imunitas yang meningkat, aktivitas proliferasi limfosit limpa akan meningkat sehingga secara morfologi ukuran limpa menjadi lebih besar. Organ limpa normal memiliki bentuk tepi yang lancip atau seperti bentuk bulan sabit. Organ limpa yang mengalami pembesaran atau pembengkakan, bentuk tepinya cenderung tumpul atau membulat.

Untuk mengetahui adanya kemungkinan secara mikroskopik terjadi perubahan pada sel-sel pembentuk organ limpa, dilakukan pengamatan mikroskopik dari preparat jaringan yang telah mendapatkan pengecatan hematoksilin eosin. Hematoksilin akan memberikan warna biru pada pulpa putih, sementara *eosin* memberikan warna merah muda pada pulpa merah. Pengamatan mikroskopik dilakukan terhadap pembentukan sentrum germinativum, hiperplasi pada pulpa putih dan pulpa merah pada organ limpa. Hasil pemeriksaan mikroskopik jaringan limpa ditunjukkan pada Tabel II.

Berdasarkan hasil pengamatan makroskopik dan mikroskopik limpa tikus yang mendapatkan aloksan saja menunjukkan limpa yang normal. Hal ini berarti bahwa pemberian aloksan tidak mempengaruhi perubahan sel-sel limpa. Aloksan merupakan senyawa diabetogen yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel pankreas. Pembentukan oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut. Aloksan mempunyai aktivitas tinggi terhadap senyawa seluler yang mengandung gugus SH, glutation tereduksi (GSH), sistein dan senyawa sulfhidril terikat protein (misalnya *SH-containing enzyme*). Hasil dari proses reduksi aloksan adalah asam dialurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan, menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida. Reaksi antara aloksan dengan asam dialurat merupakan proses yang diperantarai oleh radikal aloksan intermediet (HA^{\bullet}) dan pembentukan *compound 305*. Radikal superoksida dapat membebaskan ion ferri dari ferinitin, dan mereduksi

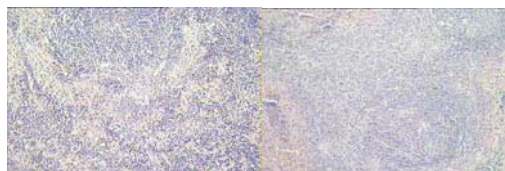
Tabel II. Hasil pemeriksaan mikroskopik limpa pada semua kelompok perlakuan.

Kel.	Tikus ke-	Pembentukan centrum germinativum pulpa putih	Pulpa merah
Likopen 3ug/kgBB + aloksan	1	Sedikit	normal
	2	Sedikit	normal
	3	sedang	hiperplasia
	4	sedang	hiperplasia
	5	Banyak	hiperplasia

Likopen 6 ug/kgBB +aloksan	1	sedang	hiperplasia
	2	banyak	hiperplasia
	3	sedikit	normal
	4	banyak	hiperplasia
	5	sedang	hiperplasia
aquadest	1	sedikit	normal
	2	sedikit	normal
	3	sedikit	normal
	4	sedikit	normal
	5	sedikit	normal
aloksan	1	sedikit	normal
	2	sedang	hiperplasia
	3	sedikit	normal
	4	sedikit	normal
	5	sedikit	normal



(a)



(b)

(c)

Gambar 2. Gambaran mikroskopik limpa tikus yang diberi (a) aloksan, nampak normal (b) likopen 3ug/kgBB dan aloksan, nampak pembentukan centrum germinativum (b) likopen 6 ug/kgBB dan aloksan, nampak pembentukan centrum germinativum yang lebih banyak.

menjadi ion ferro. Selain itu, ion ferri juga dapat direduksi oleh radikal aloksan. Radikal superoksida mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida, berjalan spontan dan ke-

ungkinan dikatalisis oleh superoksida dismutase. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas. Kerusakan DNA tersebut menstimulasi *poly ADP-ribosylation*,

proses yang terlibat pada *DNA repair*. Adanya ion ferro dan hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksi yang sangat reaktif melalui reaksi fenton (Wilson *et al.*, 1984; Szkudelski, 2001; Walde *et al.*, 2002).

Penelitian lain yang merupakan bagian dari penelitian ini menunjukkan bahwa sel beta pankreas dari tikus yang diberi aloksan dosis 120 mg/kg BB mengalami kerusakan. Hal ini dibuktikan dengan gambaran mikroskopik pankreas sel beta pankreas mengalami nekrosis serta terjadi peningkatan kadar glukosa darah (Nindita, 2010). Gangguan yang terjadi pada sel pankreas tikus karena aloksan ternyata tidak mempengaruhi aktifitas sel-sel limpa.

Berdasarkan gambaran mikroskopik limpa terlihat bahwa pembentukan sentrum germinativum dari limpa hewan uji kelompok perlakuan likopen 6 ug/kgBB dibandingkan dengan kelompok perlakuan likopen 3 ug/kgBB, terlihat lebih banyak dan tersebar. Daerah pertumbuhan pada sentrum germinativum juga terlihat jelas, dengan banyak ruang kosong dan sel-sel muda. Ruang kosong ini diperlukan untuk pertumbuhan sel-sel muda dari limfosit. Underwood (1999) mengatakan pulpa putih merupakan tempat terbesar yang memproduksi antibodi dan dapat membentuk sentrum germinativum apabila dirangsang. Pulpa putih limpa membentuk limfosit yang berperan dalam sistem imun. Studi farmakokinetik menunjukkan bahwa likopen yang diberikan secara oral paling tinggi konsentrasinya terdapat pada jaringan hati, kemudian dilanjutkan pada limpa, adrenal dan jaringan usus. Konsentrasi likopen yang berada pada limpa ke-

mungkinan yang merangsang proliferasi limfosit limpa.

Limpa bersama jaringan limfonodi berperan dalam memproduksi antibodi pada sistem imunitas humoral. Limpa berperan dalam memproduksi limfosit T terutama oleh kortek limpa bagian tepi dalam (Pearce, 2002).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa gambaran mikroskopik limpa tikus yang diberi likopen dosis 3 ug/kg BB dan 6 ug/kgBB selama 17 hari pada tikus yang diberi aloksan adalah peningkatan pembentukan sentrum germinativum pada pulpa putih.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek likopen terhadap peningkatan sistem imun dengan induksi agen infeksi pada hewan uji dan juga dilakukan pengamatan organ atau jaringan lain yang berperan dalam sistem imun.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian Universitas Ahmad Dahlan yang telah membiayai penelitian ini melalui program penelitian reguler nomer kontrak.M-11/LPP-UAD/IV/2009.

DAFTAR PUSTAKA

Agarwal, S., and Rao, A.V., 2000, Tomato lycopene and its role in

- human health and chronic disease, *CMAJ.*, 163(6).
- Brake, D.A., C.H. Fedor., B.W. Werner., T.J. Miller., J.R. Taylor., and R.A. Clare., 1997, Reviews : Characterization of Immune Response to *Eimeria tenella* Antigens in a Natural Immunity Model with Hosts Which Differ Serologically at the B Locus of the Major Histocompatibility Complex. *Infect. Immun.* 65: 1204-1210.
- Chew, B. P. and J. S. Park. 2004, Carotenoid action on the immune response. *J. Nutr.* 134:257S-261S.
- Matos, H.R., S.A., Margues, O.F. Gomes, A.A. Silva, J.C. Heimann, P., Di Mascio and M.H.G. Medeiros, 2006, Lycopene and β -carotene protect *in vivo* iron-induced oxidative stress damage in rat prostate, *Braz J.med Biol res*, Vol.39(2)203-210
- Nahum A, Hirsch K, Danilenko M.,2001, Lycopene inhibition of cell cycle progression in breast and endometrial cancer cells is associated with reduction in cyclin D levels and retention of p27(Kip1) in the cyclin E-cdk2 complexes. *Oncogene.*;20(26)3428-3436
- Nindita, 2010, Efek likopen terhadap kadar glukosa darah tikus Sprague Dawley yang diinduksi aloksan. *Skripsi*, Fak. Farmasi UAD.
- Pearce, E. C. 2002, *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Hal 166. Jakarta : Penerbit P.T Gramedia
- Underwood, J. C. E. 1999, *Patologi Umum dan Sistemik*, Edisi II, Vol II. Editor : Sarjadi. Jakarta : EGC
- [Szkudelski, T., 2001, The Mechanism Of Alloxan And Streptozotocin Action In \$\hat{a}\$ Cells Of The Rat Pancreas, *Physiology Research*, 50: 536-54.](#)
- [Walde, S.S., Dohle, C., Schott-Ohly, P., Gleichmann, H., 2002, Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice, *Life Sciences*, 71,](#)
- [Wilson, G.L., Patton, N.J., McCord, J.M., Mullins, D.W., Mossman, B.T., 1984, Mechanisms of streptozotocin- and alloxan-induced damage in rat \$\hat{a}\$ cells, *Diabetologia.*, 27\(6\):587-591.](#)